

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI
(c) 2001 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

009401947 **Image available**

WPI Acc No: 1993-095457/199312

XRAM Acc No: C93-042149

Copolymer e.g. polyester for wide variety of rigid to elastic plastic materials - contg. 3-hydroxy butyrate and 3-hydroxy hexanoate obtd. by culturing microorganism genus aeromonas, used for biodegradable plastic
Patent Assignee: KANEGAFUCHI KAGAKU KOGYO KK (KANF); KANEKA CORP (KANF)
Inventor: KOBAYASHI G; SHIOTANI T
Number of Countries: 004 Number of Patents: 007
Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
EP 533144	A2	19930324	EP 92115858	A	19920916	199312 B
JP 5093049	A	19930416	JP 91267255	A	19910917	199319
US 5292860	A	19940308	US 92945505	A	19920916	199410
EP 533144	A3	19940622	EP 92115858	A	19920916	199527
JP 2777757	B2	19980723	JP 91267255	A	19910917	199834
EP 533144	B1	19981216	EP 92115858	A	19920916	199903
DE 69227878	E	19990128	DE 627878	A	19920916	199910
			EP 92115858	A	19920916	

Priority Applications (No Type Date): JP 91267255 A 19910917

Cited Patents: No-SR.Pub; 2.Jnl.Ref; EP 440165; EP 69497

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
EP 533144	A2	E	16	C12P-007/62	
Designated States (Regional): DE GB					
JP 5093049	A		12	C08G-063/06	
US 5292860	A		11	C08G-063/06	
JP 2777757	B2		13	C08G-063/06	Previous Publ. patent JP 5093049
EP 533144	B1	E		C12P-007/62	
Designated States (Regional): DE GB					
DE 69227878	E			C12P-007/62	Based on patent EP 533144
EP 533144	A3			C12P-007/62	

Abstract (Basic): EP 533144 A

The copolymer contains a 3-hydroxy butyrate (3HB) and a 3-hydroxy hexanoate (3HHx)-units.

The prepn. involves culturing *Aeromonas caviae* using a fatty acid as a carbon source.

Pref. the copolymer may contain as a third component: 4 hydroxybutyrate (4HB) -O-CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-, 3 hydroxyvalerate (3HV), and/or 3-hydroxypropionate (3HP) -O-CH₂-CH₂-C(O)-.

The prepn. is by the microorganism *Aeromonas caviae* and pref. the Fa- 440 strain of *Aeromonas caviae* (FERM BP 3432).

The naturally occurring oil or fat is corn-, soybean, safflower-, sunflower-, olive-, coconut, palm-, rapeseed, fish- or whale-oil, lard and/or beef tallow.

USE/ADVANTAGE - Rigid elastic plastics are obtd. by selecting copolymer components and adjusting their compsn. A novel copolymer polyester is produced which undergoes microbial degradation in natural environments, e.g. soil, rivers, and seas. The microorganisms involved use inexpensive starting materials.

Dwg. 0/3

Abstract (Equivalent): US 5292860 A

A copolymer consists of (A) pref. 50-98 mol.%, recurring units of 3-OH-butyrate -O-CH(CH₃)-CH₂-C(O)- and (B) pref. 50-2 mol.%, 3-OH-hexanoate units -O-CH(CH₂-CH₂-CH₃)-CH₂-C(O)-.

The copolymer can contain as 3rd and opt. 4th constituent recurring units of a 4-OH-butyrate -O-CH₂-CH₂-C(O)-, a 3-OH-valerate -O-CH-(CH₂-CH₃)-CH₂-C(O)- or a 3-OH-propionate -O-CH₂-CH₂-C(O)-. The copolymer is produced by culturing a microorganism of genus *Aeromonas*, esp. *Aeromonas caviae*, in a culture medium under limitation of nutrients other than C sources and using as C source a fatty acid contg. an even number of at least 6 C or its lower alcohol ester or a

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-93049

(43) 公開日 平成5年(1993)4月16日

(51) Int.Cl.⁵

C 0 8 G 63/06

C 1 2 P 7/62

(C 1 2 P 7/62

C 1 2 R 1:01)

識別記号

N L P

庁内整理番号

7211-4J

8114-4B

F 1

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数11(全 12 頁)

(21) 出願番号

特願平3-267255

(22) 出願日

平成3年(1991)9月17日

(71) 出願人 000000941

鐘淵化学工業株式会社

大阪府大阪市北区中之島3丁目2番4号

(72) 発明者 塩谷 武修

兵庫県加古川市野口町野口286-1 A-906

(72) 発明者 小林 元太

兵庫県高砂市高砂町沖浜町2-63

(74) 代理人 弁理士 細田 芳徳

(54) 【発明の名称】 共重合体およびその製造方法

(57) 【要約】

【構成】 3-ヒドロキシブチレート (3HB) ユニットと3-ヒドロキシヘキサノエート (3HHx) ユニットを含む共重合体、少なくとも3HBユニットと3HHxユニットを含有する3成分系共重合体、少なくとも3HBユニットおよび3HHxユニットを含有する4成分系共重合体；これらの共重合体を合成するアエロモナス・キャピエ；アエロモナス属の微生物を用いた前記の共重合体の製造方法に関する。

【効果】 長鎖脂肪酸を資化してC₃~C₆ ユニートを合成することができ、3HHxは3HVよりもメチレン基が1個多いので可塑性が高く、柔軟性を付与する能力を有し、3HPも強度を保持しながらも弾性を与えることができる。

肪酸または④4-ヒドロキシ酪酸もしくはγ-ブチロラク톤のいずれか2種を用いて、炭素源以外の栄養源の制限下で培養することを特徴とする、3-ヒドロキシブチレート(3HB)ユニットおよび3-ヒドロキシヘキサノエート(3HHE)ユニットと、さらに前記それぞれの炭素源に対応する①3-ヒドロキシプロピオネート(3HIP)ユニット、②3-ヒドロキシバリレート(3HIV)ユニットまたは③4-ヒドロキシブチレート(4HIB)ユニットのいずれか2つのユニットの4成分系のモノマーユニットからなる共重合体の製造方法。

【請求項11】 天然油脂としてコーン油、大豆油、サフラワー油、サンフラワー油、オリーブ油、ヤシ油、パーム油、ナタネ油、魚油、鯨油、豚脂、牛脂の少なくともいずれかを用いる請求項7、9または10記載の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は新規共重合体ポリエステルおよびこれを発酵合成する微生物およびその製造方法に関する。詳しくは自然環境(土中、河川、海中)の下で微生物の作用を受けて分解するプラスチック様高分子およびその製造方法に関するものである。

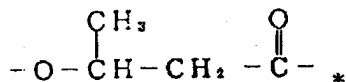
【0002】

【従来の技術・発明が解決しようとする課題】 現在まで数多くの微生物において、エネルギー貯蔵物質としてポリエステルを菌体内に蓄積することが知られている。その代表例がポリ-β-ヒドロキシブチレート(以下、P(3HB)と略す)であり、下記の式で示されるモノマーユニット(3HIB)からなるホモポリマーである。

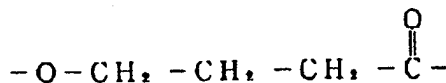
【0003】

【化6】

3HB

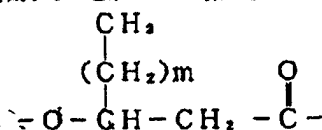


4HB



【0008】 (2) 特開昭63-226291号公報によれば、炭化水素資化菌であるシュドモナス・オレオボランスATCC29347に炭素源としてアルカンを与えることにより、炭素数が6~12までの3-ヒドロキシアルカノエート(3HIAと略す)をモノマーユニットとする共重合体P(3HIA)を発酵合成することが

3HA



(x=m+4)

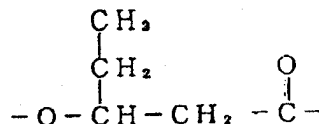
*【0004】 P(3HIB)は確かに自然環境中で生物的に分解するいわゆる生分解性プラスチックであるが、高分子材料としてみた場合、結晶性が高く、硬く、かつ脆い性質を持っており、実用的には不十分であった。このような欠点を克服する方法として、ポリエステルを構成しているモノマーユニットとして3HB以外の構造的に異なるモノマーユニットを組み込むことが提案されている。この方法は別すると次の2通りに分けることができる。

10 【0005】 (1) 特開昭57-150393号公報、特開昭58-69225号公報、特開昭63-269989号公報、特開昭64-48821号公報、特開平1-156320号公報によれば、本来P(3HB)を産生する微生物であるアルカリゲネス・ユートロファスを用い、炭素源として炭素数が奇数個のカルボン酸、例えばプロピオン酸や吉草酸を与えることにより、3HBと共にβ-ヒドロキシバリレート(3HIVと略す)をポリエステルを構成モノマーとする共重合体P(3HIB-CO-3HIV)が得られる。同様に炭素源として4-ヒドロキシ酪酸やγ-ブチロラク톤を与えることにより、3HBと共に4-ヒドロキシブチレート(4HIBと略す)をポリエステルの構成モノマーとする共重合体P(3HB-CO-4HIB)が得られることが報告されている。

【0006】

【化7】

3HIV



【0007】

【化8】

40 できることが報告されている。ここで、3HAの各モノマーユニット構造と炭素数との関係を明確に表現するために、このモノマーユニットをC_xユニットと呼ぶこととする。

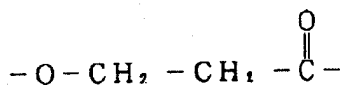
【0009】

【化9】

ヒドロキシブチレート (4HB) ユニットのいずれか1つのユニットの3成分系のモノマーユニットからなる共重合体の製造方法。

(4) アエロモナス属の微生物を、炭素源として炭素数6以上の偶数個の脂肪酸もしくはその低級アルコールエステルまたは天然油脂と、①5-クロロ吉草酸もしくはプロピオン酸、②炭素数5以上の奇数個の脂肪酸または③β-ヒドロキシ酪酸もしくはγ-ブチロラクトンのいずれか2種を用いて、炭素源以外の栄養源の制限下で培養することを特徴とする、3-ヒドロキシブチレート (3HB) ユニットおよび3-ヒドロキシヘキサノエート (3HHx) ユニットと、さらに前記それぞれの炭素源に対応する④3-ヒドロキシプロピオネート (3HP) ユニット、⑤3-ヒドロキシバチレート (3HV) ユニットまたは⑥4-ヒドロキシブチレート (4HB) ユニットのいずれか2つのユニットの4成分系のモノマーユニットからなる共重合体の製造方法に関するものであ*

3HP



【0020】(3) 炭素数5の吉草酸など炭素数が5以上の奇数個の脂肪酸を炭素源としてポリエステルを発酵合成すると、90モル%以上の3HVユニットを有するP (3HB-CO-3HV) が得られる。

(4) 4-ヒドロキシ酪酸もしくはγ-ブチロラクトンを炭素源としてポリエステルを発酵合成すると、P (3HB-CO-4HB) が得られる。

(5) 炭素数5以上の奇数個の脂肪酸と炭素数6以上の偶数個の脂肪酸の混合物を炭素源としてポリエステルを発酵合成すると、3HB、3HV、3HHxの3成分系の共重合体を得られる。

(6) オリーブオイル、吉草酸、4-ヒドロキシ酪酸を炭素源としてポリエステルを発酵合成すると、3HB、4HB、3HV、3HHxの4成分系の共重合体を得られる。

(7) グルコース、フルクトース、酢酸、酪酸を炭素源としてポリエステルを発酵合成すると、P (3HB) のホモポリマーを得られる。ポリマー生成量は酪酸では大

＊る。

【0017】アエロモナス属の微生物を用いた本発明のポリエステルの製造方法は、従来より報告されておらず、生成メカニズムは解明されていないが、実施例にも示されるように次のような特徴を有する。

【0018】(1) 炭素数6以上の偶数個の脂肪酸もしくはその低級アルコールエステル、または天然油脂の主な構成成分である炭素数12~22の長鎖脂肪酸のうち、炭素数が偶数のものを炭素源としてポリエステルを発酵合成すると、C₄、C₆の2つのユニットからなる共重合体P (3HB-CO-3HHx) が得られる。

(2) 5-クロロ吉草酸もしくはプロピオン酸を炭素源としてポリエステルを発酵合成すると、β-ヒドロキシプロピオネート (3HP) の組成が60~2モル%の共重合体P (3HB-CO-3HP) が得られる。

【0019】

【化11】

量に得られるが、グルコース、フルクトース、酢酸では微量である。

(8) カプロン酸やβ-ヒドロキシカプロン酸を炭素源として使用すると、C₆ユニットの含量を高めることができる。

【0021】本発明の微生物は、前記のようなポリエステル合成能を有するアエロモナス属の微生物であれば特に限定されるものではない。その一例として、アエロモナス・キャピエ、アエロモナス・ハイドロフィラが挙げられる。アエロモナス・キャピエの菌学的性質はFA-440株について示される表1のとおりである。このような本発明の微生物の具体例として見いだされたFA-440株およびOL-338株は、兵庫県高砂市高砂町宮前町の上堀から分離されたものであり、その内のFA-440株は微工研条第3432号として寄託されている。

【表1】

10

37

30

40

【0030】また、酢酸や酪酸からC₄ユニットが作られたり、プロピオン酸から100%のC₄ユニットが作られるなど、アエロモナス属とは全く異なる合成メカニズムを有しているようである。ロドスピリウム・ルブラムが光合成細菌であり、光照射、嫌氣的培養下でポリエステル合成すること、炭素数7以下のカルボン酸で主に生育し、かつポリエステル合成することから、この菌株はアエロモナス属の様なβ-酸化経路によらないように思われる。即ち、アエロモナス属の微生物が長鎖脂肪酸のβ-酸化に従って、C₄、C₆ユニットの2成分を合成するのに対し、ロドスピリウム・ルブラムが合成するポリエステルには規則性が認められないのである。また、ロドスピリウム・ルブラムを用いてポリエステルを合成する際の問題は、フェーラーらの論文に記述されているように、微生物の生育が光の照射の下、嫌氣的条件で培養されるため、増殖速度が極端に低いことである。従って、ポリエステルの合成速度が非常に小さく、約0.5g dry cell/リットルの菌体を得るのに10日間も要しているなど実用性に欠けることが指摘されている。これに対し、アエロモナス属の微生物は好氣的な条件下で生育しポリエステル合成するので、20g dry cell

【0037】オレイン酸を唯一の炭素源とした場合、 $3HB(C_4) : 3HHx(C_6) = 85 : 15$ の2成分系の共重合体が得られた。

【0038】実施例2

オレイン酸濃度を1.5、2.8、8.5、17.2g/リットルとして実施例1と同じ実験を行なった。その結果を同じく表2に示した。オレイン酸の濃度を低くしても C_4 、 C_6 ユニットの2成分系の共重合体が得られるが、組成が変化し、オレイン酸濃度が低いほど C_6 ユニット組成が高くなった。

【0039】実施例3

アエロモナス ハイドロフィラOL-338株を用い、炭素源としてオリーブオイルを2.8、8.5、17.2、25.4g/リットルとして実施例2と同じ実験を行った。その結果、 C_4 、 C_6 ユニットの2成分系の共重合体が得られたが、実施例2と異なり、組成比はオリーブオイル濃度に影響されずほぼ一定値を示した。

$3HB : 3HHx = 90 \sim 92 : 10 \sim 8$

(C_4) (C_6)

【0040】実施例4

炭素源としてβ-ヒドロキシカプロン酸を用いる以外は、実施例3と同様の実験を行なった。その結果、 $3HB : 3HHx = 51 : 49$ の2成分系の共重合体が得られた。

【0041】実施例5

炭素源としてプロピオン酸を用いる以外は、実施例3と同様の実験を行なった。その結果、 $3HB : 3HP = 45 : 55$ の2成分系の共重合体が得られた。

【0042】実施例6

炭素源として吉草酸を用いる以外は、実施例3と同様の実験を行なった。その結果、 $3HB : 3HV = 2 : 98$ というほとんど $P(3HV)$ ホモポリマーに近いポリマーが得られた。

【0043】実施例7

炭素源として4-ヒドロキシ酪酸を用いる以外は、実施例3と同様の実験を行なった。その結果、 $3HB : 4HB = 75 : 25$ の2成分系の共重合体が得られた。

【0044】実施例8

炭素源として天然油脂であるコーン油を用いる以外は、実施例3と同様の実験を行なった。その結果、 $3HB : 3HHx = 85 : 15$ の2成分系の共重合体が得られた。

【0045】実施例9

炭素源としてオレイン酸8g、吉草酸2gを用いる以外は、実施例3と同様の実験を行なった。その結果、 $3HB(C_4) : 3HV(C_6) : 3HHx(C_6) = 44 : 48 : 8$ からなる3成分系の共重合体が得られた。

【0046】実施例10

炭素源としてオリーブオイル4.1g、吉草酸1.7gを用いる以外は、実施例3と同様の実験を行なった。その結果、 $3HB(C_4) : 3HV(C_6) : 3HHx(C_6) = 80.2 : 11.2 : 8.6$ からなる3成分系の共重合体が得られた。

【0047】実施例11

炭素源としてオリーブオイル3.1g、4-ヒドロキシ酪酸0.69gを用いる以外は、実施例3と同様の実験を行なった。その結果、 $3HB : 4HB : 3HHx = 84.4 : 7.7 : 7.9$ からなる3成分系の共重合体が得られた。

【0048】実施例12

炭素源としてオリーブオイル0.31g、吉草酸0.17g、4-ヒドロキシ酪酸0.69gを用いる以外は、実施例3と同様の実験を行なった。その結果、 $3HB : 4HB : 3HV : 3HHx = 79.7 : 8.1 : 5.4 : 6.8$ からなる4成分系の共重合体が得られた。

【0049】

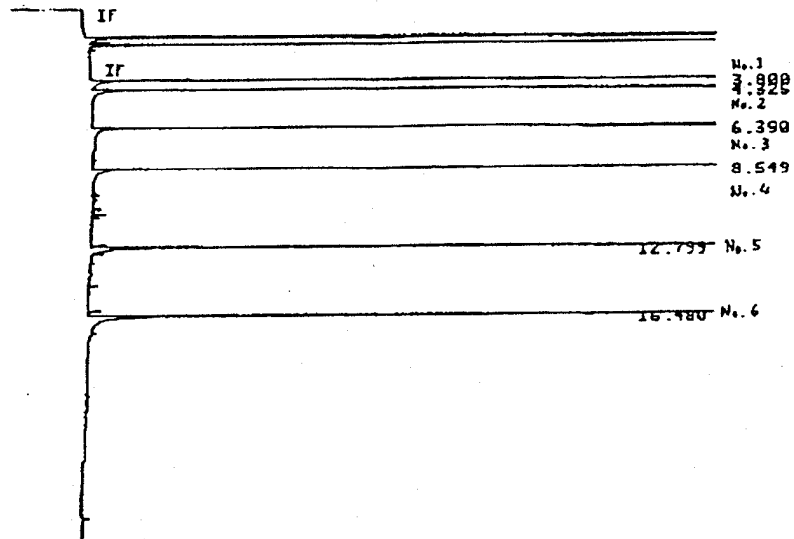
【発明の効果】微生物の発酵合成するポリエステルは、自然環境下で分解する生分解性プラスチックであるが、強い特異性を有する酵素の作用で合成されるため得られるポリエステルの構造は従来より限られたものであった。これは、微生物の遺伝的性質に基づいており、

(1) 資化する炭素源が微生物によって制限されていること、(2) 炭素源の代謝、ポリエステル合成経路も決定されていることに起因している。本発明においては、長鎖脂肪酸を資化して $C_4 \sim C_6$ ユニットを合成することができ、 C_6 ユニットである $3HHx$ は $3HV$ よりもメチレン基が1個多いので可塑性が高く、柔軟性を付与する能力を有する。また C_4 ユニットである $3HB$ も強度を保持しながらも弾性を与えることができる。このように、本発明によりアエロモナス属の微生物を用いると、剛性のプラスチックから弾性を帯びたプラスチックまで、共重合体の成分とその組成を調整することにより幅広くつくり出すことができる。特に、共重合体の成分として重要な $3HHx$ (C_6 ユニット)は、安価な原料である天然油脂から合成することができるので、経済的にも非常に有利なものである。

(11)

特開平5-93049

【図1】



【図2】

